

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
22 août 2002 (22.08.2002)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 02/064614 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷ : C07J 1/00

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR02/00477

(22) Date de dépôt international : 7 février 2002 (07.02.2002)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
0101998 14 février 2001 (14.02.2001) FR

(71) Déposant (*pour tous les États désignés sauf US*) :
L'OREAL [FR/FR]; 14, rue Royale, F_75008 Paris (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (*pour US seulement*) : DALKO, Maria [FR/FR]; 16, Résidence du Château de Courcelles, F-91190 Gif sur Yvette (FR). CAVEZZA, Alexandre [FR/FR]; 40, Avenue Nelson Mandela, F-93290 Tremblay-en-France (FR). WOHLFROMM, Valérie [FR/FR]; 33, allée de Bir Hakeim, F-93270 Sevran (FR).

(74) Mandataire : L'OREAL/D.P.I.; Dodin, Catherine, 6, rue Bertrand Sincholle, F-92585 Clichy Cédex (FR).

(81) États désignés (*national*) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (*regional*) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

- avec rapport de recherche internationale
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.



WO 02/064614 A1

(54) Title: METHODS FOR PREPARING 7ALPHA-HYDROXY-DEHYDROPIANDROSTERONE

(54) Titre : PROCEDES DE PREPARATION DE LA 7ALPHA-HYDROXY-DEHYDROPIANDROSTER ONE

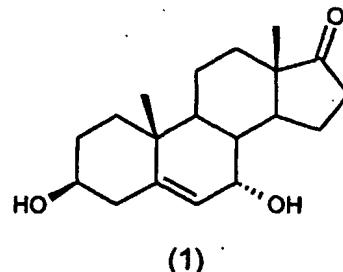
(57) Abstract: The invention relates to novel methods for preparing 7alpha-hydroxy-dehydroepiandrosterone having formula (I):

(57) Abrégé : L'invention se rapporte à de nouveaux procédés de préparation de la 7alpha-hydroxy-déhydroépiandrostérone de formule: (I)

Procédés de préparation de la 7alpha-Hydroxy-déhydroépiandrostérone

L'invention se rapporte à de nouveaux procédés de préparation de la 7alpha-hydroxy-déhydroépiandrostérone de formule (1) :

5



- 10 La 7alpha-hydroxy-déhydroépiandrostérone (7α -OH-DHEA) est un dérivé bien connu dans la littérature scientifique; on peut notamment citer les documents suivants :
- FR-A1-2 771 105 ;
 - WO-A1-94/03176 et WO-A1-92/03925.
- 15 Chacun des documents précités rapporte un procédé de synthèse de la 7α -OH-DHEA. Le document FR-A1-2 771 105 décrit un procédé pour la préparation de la 7α -OH-DHEA en une étape à partir de la déhydroépiandrostérone (DHEA) en utilisant un champignon : *Fusarium moniliforme*. Ce procédé de bioconversion permet la transformation directe de la DHEA en son dérivé 7-alpha-hydroxylé avec un rendement
20 de 79%.
Ce procédé permet la préparation en une seule étape de la 7α -hydroxy-DHEA, mais il utilise le *Fusarium moniliforme* qui est un champignon microscopique phytopathogène. Ce champignon s'attaque au maïs, au sorgho (voir notamment un document publié sur Internet sur le site : <http://pested.unl.edu/catmans/fum.skp/fumchp8.htm>).
25 En outre, *Fusarium moniliforme* sécrète des toxines oncogènes qui peuvent se révéler très dangereuses pour l'homme (voir notamment un document publié sur Internet sur le site : <http://www.hsafety.unc.edu/Manuals/LabManual/app7a.htm>).

- Les documents WO-A1-94/03176 et WO-A1-92/03925 décrivent un procédé par voie
30 chimique en 4 étapes, pour la préparation de la 7α -OH-DHEA à partir de la 3-O-acétyl-DHEA.

JC20 Rec'd PCT/PTO 07 OCT 2005

La première étape de ce procédé permet l'obtention de la 3-O-acétyl-7-Bromo-DHEA à partir de la 3-O-acétyl-DHEA (produit de départ commercial) par traitement avec un agent bromant. Le mélange d'isomères 3-O-acétyl-7-Bromo-DHEA obtenu est instable et doit être rapidement utilisé dans la suite du procédé.

- 5 Dans une seconde étape, le mélange racémique d'isomères 7α -Bromo et 7β -Bromo est équilibré de manière à obtenir l'isomère 7α -Bromo (isomère thermodynamiquement le plus stable) sous forme majoritaire.

Après équilibration, la 3-O-acétyl-7-Bromo-DHEA traitée avec un mélange d'acide acétique glacial et d'acétate d'argent permet l'obtention du 3-O-acétyl- 7α -O-acétyl-

10 DHEA.

Le 3-O-acétyl- 7α -O-acétyl-DHEA traité par du carbonate de sodium (Na_2CO_3) dans un mélange constitué d'eau et de méthanol donne la 7α -OH-DHEA qui est alors purifiée par cristallisation.

- 15 Ce procédé de synthèse en 4 étapes présente l'inconvénient majeur de nécessiter une étape de bromation (deuxième étape) non stéréosélective, qui conduit à des intermédiaires bromés instables. En outre, le procédé nécessite une étape d'équilibration, qui permet d'obtenir l'isomère thermodynamique (7 α -Bromo-3-O-acétyl-DHEA) de manière prédominante. L'étape d'équilibration telle que décrite dans les
- 20 documents WO-A1-94/03176 et WO-A1-92/03925 est ambiguë car la proportion relative des isomères 7α - et 7β -Bromo-3-O-acétyl-DHEA obtenue après équilibration n'est pas précisée.

Il est également à noter que le procédé décrit ne rapporte pas de rendement obtenu et ne précise pas la pureté optique de la 7α -OH-DHEA qui est obtenue, ce composé étant

25 seulement documenté par son point de fusion, après recristallisation (192-193°C).

En outre, les conditions de désacétylation qui sont rapportées dans l'art antérieur ne permettent pas d'obtenir de manière satisfaisante la 7α -OH-DHEA à partir de la 3-O-acétyl- 7α -OH-DHEA.

30 Ces conditions consistent :

- soit en une méthode classique de saponification en utilisant de la soude en milieu aqueux,
- soit en une méthode décrite dans les documents WO-A1-94/03176 et WO-A1-92/03925 et consistant en une réaction de double désacétylation de la 3-O-acétyl-

7-O-acétyl-DHEA par traitement avec du carbonate de sodium dans un mélange constitué d'eau et de méthanol.

- Ces méthodes, appliquées à la réaction de désacétalisation de la 3-O-acétyl-7-O-acétyl-DHEA ou de la 3-O-acétyl-7 α -OH-DHEA, conduisent à des mélanges de produits dans
- 5 lesquels on retrouve majoritairement la 7 α -OH-DHEA. En effet, les conditions réactionnelles utilisées ne sont pas adaptées et conduisent à la formation de produits de décomposition comprenant notamment ceux issus de la déshydratation de l'alcool en position 7 de la 3-O-acétyl-7 α -OH-DHEA.
- 10 On comprend donc l'intérêt de mettre en œuvre des procédés permettant la préparation de la 7 α -OH-DHEA de manière simple, rapide avec des rendements industriellement acceptables et présentant une diastéréosélectivité ne nécessitant pas d'étape d'équilibration ou d'élimination du diastéréoisomère minoritaire (7 β -OH), les procédés présentant de plus l'avantage de ne pas faire intervenir de microorganisme
- 15 phytopathogène et/ou oncogène.
- En outre, les procédés suivant la présente invention présentent également l'avantage de comporter une réaction de désacétalisation permettant d'obtenir la 7 α -OH-DHEA à partir de la 3-O-acétyl-7 α -OH-DHEA dans des conditions satisfaisante sans formation de produits de décomposition.
- 20 C'est le but de la présente invention qui a pour objets de proposer de nouveaux procédés de synthèse de la DHEA.
- L'objet de la présente invention se rapporte à un procédé de préparation de la 7 α -OH-
- 25 DHEA de formule (1) à partir de la 3-O-acétyl-7 α -OH-DHEA de formule (4) suivant une étape (iii) consistant en une réaction de trans-estérification en utilisant un alkolate de métal alcalin dans l'alcool correspondant.
- La réaction de trans-estérification qui est utilisée dans le procédé de l'invention consiste
- 30 essentiellement à :
- a) dissoudre la 3-O-acétyl-7 α -OH-DHEA dans un solvant alcoolique choisi parmi l'éthanol, le méthanol ou le *tert*-butanol, de préférence le méthanol ;
 - b) ajouter entre 1 et 3 équivalents, de préférence entre 1,5 et 3 équivalents, avantageusement 1 équivalent d'un alkolate de métal alcalin, l'alkolate étant choisi

- de préférence parmi l'éthanolate, le *tert*-butanolate ou le méthanolate, avantageusement le méthanolate, le métal alcalin étant choisi de préférence parmi le lithium, le sodium ou le potassium, avantageusement le sodium ;
- c) agiter le milieu réactionnel pendant une durée comprise entre 0,5 et 12h, de préférence entre 1h et 5h, avantageusement pendant 2h ;
- d) évaporer le solvant réactionnel et diluer avec de l'eau, puis extraire le mélange avec un solvant choisi de préférence parmi le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle, le chloroforme ou le diéthyléther, et avantageusement le dichlorométhane ;
- e) sécher la phase organique est puis l'évaporer à sec ;
- 10 f) éventuellement purifier le résidu, par exemple par chromatographie.

Avantageusement, l'invention se rapporte à un procédé de préparation de la 7 α -OH-DHEA de formule (1) à partir de la 3-O-acétyl 7-oxo DHEA de formule (3) comprenant 15 l'étape (iii) telle que définie précédemment, caractérisé en ce que l'étape (iii) est précédée d'une étape (ii) consistant en une réduction régiosélective et diastéréosélective de la 3-O-acétyl-7-oxo-DHEA en utilisant le L-Selectride® comme agent réducteur.

20 Selon une forme préférée d'exécution de l'invention, la réduction de l'énone de la 3-O-acétyl-7-oxo-DHEA de formule (3) peut être réalisée de manière régiosélective et diastéréosélective, sans protection préalable du carbone en position 17, en utilisant comme agent réducteur le L-Selectride® ou Lithium tri-sec-butylborohydride (LiB[CH(CH₃)C₂H₅]₃H), suivant une méthode décrite dans le document *Steroids*, 25 1998, 63, 454-458 qui a été modifiée.

Cette méthode consiste essentiellement à :

- a) préparer une solution de 3-O-acétyl 7-oxo DHEA dans un solvant polaire organique anhydre choisi parmi le tétrahydrofurane (THF), le benzène ou le diéthyléther, de préférence le THF ;
- b) refroidir la solution à une température comprise entre -90 et -10°C, de préférence entre -80 et -60°C, avantageusement à -78°C ;
- c) ajouter sous atmosphère inerte entre 0,9 et 1,1 équivalents de L-Selectride®, de préférence entre 0,95 et 1,05, avantageusement 1 équivalent ;

- d) agiter la solution à une température comprise entre -90 et -10°C, de préférence entre -80 et -60°C, avantageusement à -78°C pendant une durée comprise entre 1 et 10h, de préférence pendant 5h ;
- e) porter la température du milieu réactionnel à une température comprise entre -10 et 5 10°C, de préférence à 0°C ;
- f) ajouter une solution aqueuse de soude (NaOH), de préférence à une concentration comprise entre 1 et 10M, avantageusement 6M, puis une solution aqueuse de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), de préférence à 30 à 50%, avantageusement à 30%, et agiter à température ambiante ;
- 10 g) diluer le milieu réactionnel dans un solvant polaire organique choisi parmi le diéthyléther, l'acétate d'éthyle, le chloroforme ou le dichlorométhane, de préférence le diéthyléther ;
- h) laver plusieurs fois par lavage aqueux acides, de préférence avec au moins une solution aqueuse à l'acide citrique à 5%, puis lavage avec au moins une solution aqueuse basique, de préférence avec une solution de bicarbonate de potassium (KHCO₃) saturé puis lavage avec au moins une solution aqueuse neutre ;
- 15 i) sécher la phase organique puis l'évaporer à sec ;
- j) éventuellement purifier le résidu, par exemple par chromatographie.

20

Avantageusement, l'invention se rapporte à un procédé de préparation de la 7α-OH-DHEA de formule (1) à partir de la 3-O-acétyl-DHEA de formule (2) comprenant les étapes (iii) et (ii) telle que décrite précédemment, caractérisé en ce que l'étape (ii) est précédée d'une étape (i) consistant en une réaction d'oxydation en position allylique de la 3-O-acétyl-DHEA.

La figure 1 illustre ce procédé de synthèse en 3 étapes de la 7α-OH-DHEA suivant l'invention.

30 Selon l'invention, une première forme préférée d'exécution de la réaction d'oxydation en position allylique de la 3-O-acétyl-DHEA de formule (2) est effectuée selon une méthode décrite dans le document *Tetrahedron Letters*, 1997, 38, 119-122, qui a été modifiée. Ce document décrit une méthode d'oxydation allylique par un peroxyde en présence de sel de cuivre comme catalyseur sur des squelettes stéroïdiens.

Cette méthode consiste essentiellement à :

- a) dissoudre la 3-O-acétyl-DHEA dans un solvant organique ou un mélange de solvants organiques, de préférence choisi parmi l'acetonitrile, le cyclohexane, le benzène, le méthanol, l'éthanol ou le *tert*-butanol, avantageusement l'acetonitrile ;
 - b) ajouter sous atmosphère inerte entre 0,005 et 0,1 équivalents de cuivre, de préférence 0,01 équivalents, de préférence sous forme de sel de cuivre, par exemple choisi parmi le iodure de cuivre (CuI), le bromure de cuivre ($CuBr$), le chlorure de cuivre ($CuCl$), le chlorure de cuivre II ($CuCl_2$), avantageusement CuI ;
 - c) refroidir le milieu réactionnel à une température comprise entre -10 et 10°C, avantageusement comprise entre 5 et 10°C ;
 - d) ajouter goutte à goutte entre 5 et 10 équivalents, de préférence 6 équivalents de peroxyde organique ou minéral, de préférence organique, par exemple choisi parmi les alkyls hydroperoxyde, avantageusement le *t*-butyl hydroperoxyde (*t*-BuOOH) ;
 - e) laisser la température du milieu réactionnel remonter à température ambiante et agiter pendant une durée comprise entre 0,5 et 4h, de préférence 2h ;
 - f) chauffer à une température comprise entre 40 et 80°C, de préférence entre 50 et 70°C, avantageusement à 50°C, pendant une durée comprise entre 4 et 72h, de préférence entre 16 et 24h, avantageusement pendant 20h ;
 - g) refroidir le milieu réactionnel et l'ajouter à une solution aqueuse alcaline, de préférence une solution de bicarbonate de sodium ($NaHCO_3$) à 10% ;
 - h) extraire la phase aqueuse par un solvant organique, par exemple choisi parmi le diéthyléther, l'acétate d'éthyle, le chloroforme, le dichlorométhane, de préférence le diéthyléther, puis laver les phases organiques avec une solution aqueuse alcaline, de préférence une solution aqueuse saturée en $NaHCO_3$, et éventuellement avec une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium ($NaCl$) ;
 - i) sécher les phases organiques et les évaporer à sec sous vide ;
 - j) éventuellement purifier le résidu suivant des méthodes usuelles.
- 30 Selon l'invention, une seconde forme préférée d'exécution de la réaction d'oxydation en position allylique de la 3-O-acétyl-DHEA de formule (2) est effectuée selon une méthode décrite dans les documents WO 92/03925 et WO 94/03176, qui a été modifiée. Ces documents décrivent une méthode d'oxydation allylique de la 3-O-acétyl-

DHEA par un mélange d'anhydride d'acide, d'acide acétique et d'acétate de sodium en présence de trioxyde de chrome (CrO_3).

Cette méthode consiste essentiellement à :

- 5 a) préparer un mélange constitué de 3-O-acétyl-DHEA ; d'anhydride d'acide, en quantité de préférence comprise entre 3 et 20 équivalents, avantageusement 11 équivalents ; d'acide acétique, en quantité de préférence comprise 20 et 120 équivalents, avantageusement 66 équivalents ; d'acétate de sodium, en quantité de préférence comprise 1 et 5 équivalents, avantageusement 3 équivalents ;
 - 10 b) placer sous agitation le milieu réactionnel et chauffer à une température comprise entre 40 et 60°C, de préférence entre 56 et 58°C ;
 - c) ajouter entre 1 et 10 équivalents d'un oxyde, de préférence entre 2 et 6 équivalents, avantageusement 3,5 équivalents, l'oxyde pouvant être choisi parmi un oxyde de chrome, de manganèse, de sélénium ou de magnésium, de préférence c'est un oxyde de chrome, avantageusement le trioxyde de chrome (CrO_3) ;
 - 15 d) maintenir le milieu réactionnel sous agitation pendant une durée comprise entre 0,5 et 4h, de préférence pendant 1h à une température comprise entre 40 et 60°C, de préférence entre 56 et 58°C ;
 - e) refroidir le milieu réactionnel et l'ajouter, sous agitation, à une solution constituée
 - 20 d'eau et de glace ;
 - f) filtrer le précipité obtenu puis le laver plusieurs fois à l'eau ;
 - g) sécher le résidu et éventuellement le purifier suivant des méthodes usuelles, de préférence le produit est recristallisé.
- 25 Selon l'invention, une troisième forme préférée d'exécution de la réaction d'oxydation en position allylique de la 3-O-acétyl-DHEA de formule (2) est effectuée suivant une méthode décrite dans le document WO 98/50409, qui a été modifiée. Ce document décrit une méthode d'oxydation allylique en utilisant un périodate d'un métal alcalin et un hydroperoxyde d'alkyle.

30

Cette méthode consiste essentiellement à :

- a) dissoudre la 3-O-acétyl-DHEA de formule (2) dans un solvant organique ou un mélange de solvant organique, de préférence choisi parmi l'acétone, l'heptane, l'acetonitrile, le *tert*-butanol, la pyridine, l'éther de pétrole, l'hexane, l'isooctane ou le

- cyclohexane, avantageusement dans un mélange constitué d'acétone et d'heptane, très préférentiellement dans un rapport 1/1 ;
- b) ajouter entre 10 et 15 équivalents d'hydroperoxyde d'alkyle, avantageusement le t-butyl-hydroperoxyde, préférentiellement à 70 ou 80% dans l'eau ;
- 5 c) agiter à température ambiante et ajouter entre 1 et 5 équivalents, de préférence 3 équivalents, de périodate de métaux alcalins, avantageusement le périodate de sodium (NaIO_4) ;
- d) ajouter de l'eau en une quantité suffisante pour permettre une solubilisation totale du périodate dans le milieu réactionnel, avantageusement entre 10 et 50% en volume, préférentiellement entre 15 et 40% en volume, très préférentiellement entre 10
10 20 et 30% en volume ;
- e) ajouter entre 1 et 5 équivalents, de préférence 3 équivalents, d'une base organique, de préférence de la pyridine ou une base faible inorganique, de préférence choisie parmi les carbonates ou les bicarbonates de métaux alcalins, avantageusement le bicarbonate de sodium ;
- f) agiter la solution pendant une durée comprise entre 8 et 48 h, de préférence pendant 14h à température ambiante ;
- 15 g) diluer le milieu réactionnel avec de l'acétate d'éthyle, du dichlorométhane, du chloroforme ou du diéthyléther, préférentiellement de l'acétate d'éthyle ;
- h) laver plusieurs fois le mélange avec une solution aqueuse de sulfate sodium, puis avec de l'eau ;
- i) sécher la phase organique puis l'évaporer à sec ;
- j) éventuellement purifier le résidu suivant des méthodes usuelles, de préférence par recristallisation.
- 25 Selon l'invention, par atmosphère inerte, on entend l'argon ou l'azote et par température ambiante, on entend une température comprise entre 15 et 25 °C.
- Les méthodes de purification pouvant éventuellement être mises en œuvre à la fin de chacune des étapes des procédés suivant l'invention sont réalisées selon des méthodes 30 classiques utilisées en synthèse organique.

Comme mentionné précédemment, la réaction de réduction de la 3-O-acétyl-DHEA par le L-Selectride® est diastéréosélective : le diastéréoisomère obtenu sélectivement est la

3-O-acétyl-7 α -OH-DHEA. En revanche, la réaction de réduction de la 3-O-acétyl-DHEA par le L-Selectride® peut générer une quantité non négligeable de produit réduit en position 7 et 17. Ce produit secondaire peut être facilement éliminé, par exemple par chromatographie, à ce stade ou après la réaction transestérification selon l'étape (iii).

5

Cependant, afin d'éviter la formation du produit réduit en position 7 et 17 lors de l'étape (ii), un procédé de préparation de la 7 α -OH-DHEA suivant la présente invention peut en outre comprendre des étapes supplémentaires de protection puis de déprotection du carbonyle en position 17 de l'espèce réagissant.

10

Ainsi, l'invention se rapporte avantageusement à un procédé de préparation de la 7alpha-hydroxy-déhydroépiandrostérone de formule (1), à partir de la 3-O-acétyl-déhydroépiandrostérone comprenant les étapes (i), (ii) et (iii) telles que décrites précédemment, caractérisé en ce qu'il comprend en outre les étapes supplémentaires suivantes :

15

- (iv) une réaction de protection du carbonyle en position 17 de la 3-O-acétyl-DHEA avant l'étape (i) ;
- (v) une réaction de déprotection du carbonyle en position 17 du dérivé obtenu après l'étape (ii), la dite réaction de déprotection ayant lieu avant l'étape (iii).

20

La protection du carbonyle en position 17 de la 3-O-acétyl-DHEA peut être réalisée suivant des méthodes classiquement utilisées en synthèse organique et bien connues de l'homme du métier comme par exemple celles décrites dans le document *Protective Groups in Organic Synthesis*, T. W. Greene, P. G. M. Wuts (Wiley Interscience).

Selon l'invention, le carbonyle en position 17 de la 3-O-acétyl-DHEA peut être protégé sous forme d'acétal cyclique ou non cyclique, de dithio acétal cyclique ou non cyclique, de monothio acétal, de cyanohydrine O-substituée, d'hydrazone substituée, d'imine, d'enamine, d'imidazolidine ou de benzothiazole.

Avantageusement, le carbonyle en position 17 de la 3-O-acétyl-DHEA peut être protégé sous forme d'acétal cyclique ou non cyclique, de dithio acétal cyclique ou non cyclique d'imine, d'enamine ou d'imidazolidine.

Selon l'invention, une première forme préférée d'exécution de la protection du carbonyle en position 17 de la 3-O-acétyl-DHEA selon l'étape (iv), peut être réalisée en protégeant le carbonyle en position 17 sous forme d'acétal cyclique suivant une méthode décrite dans le document *Synth. Comm.* 1995, 25, 395-404, qui a été modifiée.

5 Cette méthode consiste essentiellement à :

- a) préparer une solution constituée de 3-O-acétyl-DHEA de formule (2), un diol, de préférence d'éthylène glycol et un excès de desséchant, de préférence choisi parmi le tamis moléculaire ou l'orthoformiate d'éthyle, de préférence l'orthoformiate d'éthyle, avantageusement dans un rapport respectif de 1 mmol / 3 ml / 2 ml ;
- 10 b) ajouter une quantité catalytique de proton ayant avantageusement comme source l'acide paratoluènesulfonique ou des résines échangeuses d'ions ;
- c) agiter le mélange à une température comprise entre 30 et 60 °C, de préférence à 40°C pendant une durée comprise entre 1 et 8h, de préférence à 3h ;
- d) amener la température du milieu réactionnel à température ambiante ;
- 15 e) ajouter une solution aqueuse de NaHCO₃ ;
- f) extraire le mélange avec un solvant choisi parmi le dichlorométhane, le chloroforme, l'acétate d'éthyle ou le diéthyléther, de préférence avec du dichlorométhane ;
- g) laver la phase organique, la sécher puis l'évaporer à sec ;
- 20 h) éventuellement purifier le résidu suivant des méthodes usuelles, de préférence par chromatographie sur gel de silice.

Selon l'invention, une seconde forme préférée d'exécution de la protection du carbonyle en position 17 de la 3-O-acétyl-DHEA selon l'étape (iv), peut être réalisée en protégeant le carbonyle en position 17 sous forme d'acétal cyclique suivant une méthode de distillation azéotropique décrite dans le document *Synth. Comm.* 1995, 25, 395-404, qui a été modifiée.

Cette méthode consiste essentiellement à :

- a) porter à reflux un mélange constitué de 3-O-acétyl DHEA de formule (2), d'éthylène glycol et d'acide paratoluènesulfonique (pTsOH) en solution dans du benzène, de préférence dans un rapport respectif de 1 mmol / 5 ml / 0,1 mmol / 20 ml, dans un montage permettant de réaliser une distillation azéotropique, de préférence équipé d'un Dean-Stark ;
- 30 b) chauffer à une température comprise entre 80 et 100°C, de préférence à reflux du benzène, pendant une durée comprise entre 4 et 48h, de préférence pendant 24h ;

- c) laisser revenir la température du milieu réactionnel à température ambiante ;
- d) sécher la phase organique puis l'évaporer à sec ;
- e) éventuellement purifier le résidu suivant des méthodes usuelles, de préférence par recristallisation.

5

Les méthodes de déprotection du carbonyle en position 17 de la 3-O-acétyl-7 α -hydroxy-DHEA protégée en position 17 peuvent être réalisées suivant des méthodes classiquement utilisées en synthèse organique et bien connues de l'homme du métier comme par exemple celles décrites dans le document *Protective Groups in Organic*

10 *Synthesis*, T. W. Greene, P. G. M. Wuts (Wiley Interscience).

Ainsi, selon l'invention, une première forme préférée d'exécution de la déprotection du carbonyle en position 17 de la 3-O-acétyl-7 α -hydroxy-DHEA protégée en position 17 sous forme d'acétal, de préférence cyclique, selon l'étape (v) peut être réalisée suivant

15 une méthode décrite dans le document *Steroids* 1996, 61, 453-460, qui a été modifiée.

Cette méthode consiste essentiellement à :

- a) dissoudre la 3-O-acétyl-7 α -hydroxy-DHEA protégée en position 17 sous forme d'acétal, dans un mélange comprenant de l'eau et un solvant miscible à l'eau, de préférence de l'acétone, de préférence dans un rapport 1/1 en volume ;
- b) ajouter de l'acide paratoluènesulfonique (p-TsOH), de préférence 1 équivalent ;
- c) agiter la solution pendant une durée comprise entre 4 et 48h, préférentiellement 24h à température ambiante ;
- d) évaporer sous vide le solvant miscible à l'eau ;
- e) diluer le milieu réactionnel avec un solvant organique, de préférence choisi parmi l'acétate d'éthyle, le dichlorométhane, le chloroforme ou du diéthyléther, avantagusement l'acétate d'éthyle, puis laver plusieurs fois avec de l'eau ;
- f) sécher la phase organique puis l'évaporer à sec ;
- g) éventuellement purifier le résidu suivant des méthodes usuelles, de préférence par recristallisation.

30

Selon l'invention, une seconde forme préférée d'exécution de la déprotection du carbonyle en position 17 de la 3-O-acétyl-7 α -hydroxy-DHEA protégée en position 17 sous forme d'acétal, de préférence cyclique, selon l'étape (v) peut être réalisée suivant une méthode décrite dans le document *Steroids* 1996, 61, 453-460, qui a été modifiée.

Ainsi, selon cette autre forme préférée de l'invention, le carbonyle en position 17 de la 3-O-acétyl-7 α -hydroxy-DHEA protégée en position 17 sous forme d'acétal, de préférence cyclique, est déprotégé suivant une méthode décrite dans le document

5 *Synth. Comm.* 1995, 25, 395-404, qui a été modifiée.

Cette méthode consiste essentiellement à :

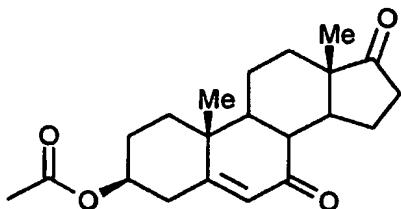
- a) préparer une solution constituée de 3-O-acétyl-7 α -hydroxy-DHEA protégée en position 17 sous forme d'acétal, de préférence cyclique, correspondant avantageusement à la 1,3-dioxolane ou à la 1,3-dioxane, dans un solvant organique
- 10 10 choisi parmi le benzène, le chloroforme ou le dichlorométhane, préférentiellement du chloroforme ;
- b) ajouter du sulfate de cuivre adsorbé sur de la silice en une quantité comprise entre 2 et 4g, de préférence 2,5g par mmol de 3-O-acétyl-7 α -hydroxy-DHEA protégée en position 17 sous forme d'acétal ;
- c) agiter le milieu réactionnel pendant une durée comprise entre 1 à 48h, de préférence entre 2 et 20h, avantageusement 6h à une température comprise entre 20 et 80°C, de préférence entre 50 et 70°C, avantageusement à 60°C ;
- d) filtrer la silice et concentrer à sec ;
- e) éventuellement purifier le résidu suivant des méthodes usuelles, de préférence par recristallisation.

L'invention est illustrée plus en détail dans les exemples suivants qui décrivent les différentes étapes du procédé suivant l'invention.

25

Exemple 1 :

Synthèse de la 3-O-acétyl-7-oxo-DHEA de formule (3)



30

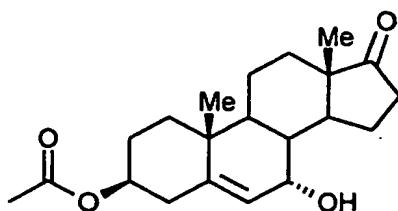
(3)

Méthode 1 :

- On prépare une solution de 10g de 3-O-acétyl-DHEA dans 200ml d'acetonitrile. On ajoute sous atmosphère inerte 60 mg de Cul. On refroidit la solution entre 5 et 10°C et
- 5 on ajoute goutte à goutte 19,6 ml de *t*-BuOOH à 80%. A la fin de l'addition, on laisse la température du milieu réactionnel remonter à température ambiante et on agite pendant 2h, puis on chauffe à 50°C pendant 20h. On refroidit ensuite le milieu réactionnel et on le verse sur 300g de solution de bicarbonate de sodium (NaHCO_3) à 10%. On extrait 3 fois avec de le diéthyléther puis on lave la solution organique avec une solution de
- 10 NaHCO_3 saturée, puis une solution de chlorure de sodium (NaCl) saturée. Après séchage et évaporation à sec, on obtient le produit brut sous forme de solide. Le résidu est recristallisé dans un mélange acétone/hexane.
- Point de fusion: 190°-192°C ;
- Rendement : 91% ;
- 15 - $[\alpha]_d = -76^\circ$ (méthanol) ;
- ^1H RMN et spectrométrie de masse conforme.

Méthode 2 :

- On prépare une solution constituée par un mélange de 6,5 ml d'anhydride acétique (Ac₂O), 23 ml d'acide acétique (AcOH), 1,7g d'acétate de sodium (AcONa) et 2g de 3-O-acétyl-DHEA. On agite et on chauffe le milieu réactionnel entre 56 et 58°C. On ajoute ensuite 2g de trioxyde de chrome (CrO₃) pendant 30 minutes en maintenant la température constante entre 56°-58°C. La solution est agitée à cette température pendant 1h après la fin de l'addition, puis refroidie et lentement ajoutée (tout en agitant)
- 25 à une solution de 600 ml d'eau glacée. On filtre le précipité, que l'on lave avec de l'eau jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de couleur verte. On sèche sous vide avec du dipentaoxyde de phosphore (P₂O₅), et on recristallise dans le méthanol pour obtenir le produit de formule (3) sous forme de solide.
- Point de fusion : 191-192°C ;
- 30 - Rendement : 50-70%

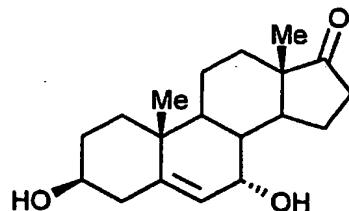
Exemple 2 :**Synthèse de la 3-O-acétyl-7 α -OH-DHEA de formule (4)**

5

- On prépare une solution de 300mg de 3-O-acétyl-7-oxo-DHEA dans 20ml THF anhydre que l'on refroidit à -78°C. On ajoute goutte à goutte et sous atmosphère inerte 0,78 ml de L-Selectride® commercialisé par la Société Aldrich (1M dans le THF). La solution est agitée à -78°C pendant 5h. Le milieu réactionnel est amené à 0°C et on ajoute 0,9 ml d'une solution de NaOH (6M), puis 0,9 ml de H₂O₂ (30%) et on agite 30 minutes à température ambiante. On dilue dans 120 ml de diéthyléther. Après plusieurs lavages aqueux acides (acide citrique 5%), basiques (KHCO₃, saturé) et neutres, la solution organique est séchée puis évaporée à sec.
- Le résidu comprend la 3-O-acétyl-7 α -OH-DHEA (diastéréoisomère obtenu sélectivement) et environ 10% du produit réduit en position 7 et 17. Le diastéréoisomère 7 β -OH n'a pas été identifié dans le mélange.
- Le résidu est purifié par chromatographie pour conduire à la 3-O-acétyl-7 α -OH-DHEA sous forme solide.
- Rendement = 70 % ;
- ¹H RMN et spectrométrie de masse conforme.

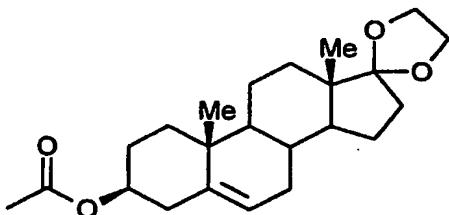
Exemple 3 :**Synthèse de la 7 α -OH-DHEA de formule (1)**

25

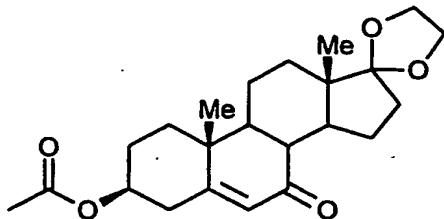


(1)

- On prépare une solution de 3-O-acétyl-7 α -OH-DHEA dans du méthanol. On ajoute 1 équivalent molaire de méthanolate de sodium (MeONa) et on agite pendant une durée 5 comprise entre 3 à 12h. On évapore le méthanol, on dilue avec de l'eau et on extrait avec du dichlorométhane. La solution organique est séchée puis évaporée à sec. Le résidu est purifié par chromatographie pour conduire à la 7 α -OH-DHEA sous forme solide.
- Rendement : 70% ;
 - 10 - $[\alpha]_d = -66^\circ$ (méthanol) ;
 - Point de fusion : 172-173°C ;
 - ^1H RMN et spectrométrie de masse conforme.

15 Exemple 4 :**Synthèse de la 3-O-acétyl-17,17-éthylènedioxy-DHEA**

- 20 On prépare une solution de 1mmol de 3-O-acétyl DHEA dans 3ml d'éthylène glycol et 2ml d'orthoformiate d'éthyle. On ajoute une quantité catalytique de p-TsOH et on agite à 40°C pendant 3h. On refroidit à température ambiante et on ajoute une solution de NaHCO₃ à 10%. On extrait 3 fois avec du dichlorométhane puis on lave la solution organique avec une solution de NaCl saturée. Après séchage et évaporation à sec on obtient le produit brut sous forme de solide. Le résidu est purifié sur gel de silice 25 (EtOAC / Hexane, 17 / 83).
- Rendement : 77% ;
 - Point de fusion = 135-137°C (MeOH).

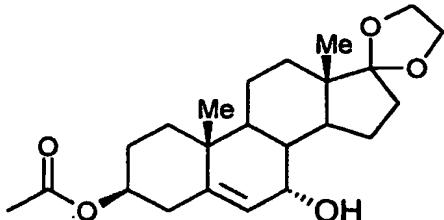
Exemple 5 :**Synthèse de la 3-O-acétyl-7-oxo-17,17-éthylènedioxy-DHEA**

5

- On prépare une solution de 374mg de 3-O-acétyl-17,17-éthylènedioxy-DHEA dans 3,5 ml d'acétone et 3,5 ml d'heptane. On ajoute 2ml de t-butyl hydroperoxyde (70% dans l'eau) et on agite à température ambiante pendant 15 minutes, après lesquelles on ajoute du NaIO₄ (650 mg), de l'eau (0,9 ml) et du bicarbonate de sodium (55 mg). Cette 10 solution est ensuite agitée pendant 14h à température ambiante. Le milieu réactionnel est dilué avec de l'acétate d'éthyle (10ml), et lavée avec de l'eau, puis 2 fois avec une solution aqueuse de sulfate de sodium à 15%, puis de l'eau. Après évaporation du solvant, on obtient le produit brut sous forme solide, qui est recristallisé dans du méthanol.
- 15 - Rendement : 67% ;
- Point de fusion : 182-183°C (MeOH)

Exemple 6 :**Synthèse de la 3-O-acétyl-7α-hydroxy-17,17-éthylènedioxy-DHEA**

20



- On prépare une solution de 800mg de 3-O-acétyl-7-oxo-17,17-éthylènedioxy-DHEA dans 20ml de THF anhydre que l'on refroidit à -78°C. On ajoute goutte à goutte et sous atmosphère inerte 2 ml de L-Selectride® (1M dans le THF). La solution est agitée à -78°C pendant 5h. Le milieu réactionnel est porté à 0°C et on ajoute 0,9 ml d'une

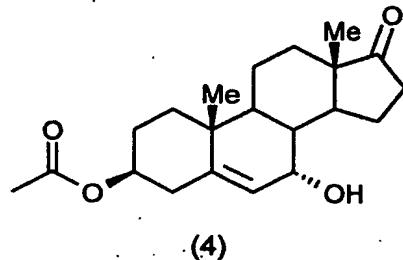
solution de NaOH (6M), puis 2,25 ml de H₂O₂ (30%) et on agite 30 minutes à température ambiante. On dilue dans 120 ml de diéthyléther. Après plusieurs lavages acides (acide citrique 5%), basiques (KHCO₃ saturé) et neutres, la solution organique est séchée puis évaporée à sec.

- 5 Le résidu obtenu, dans lequel le diastéréoisomère 7β-hydroxy n'a pas été identifié, est purifié par chromatographie pour conduire à la 3-O-acétyl-7α-hydroxy-17,17-éthylènedioxy-DHEA sous forme solide, que l'on purifie sur gel de silice (EtOAc / Hexane : 35/65).
- Rendement = 75 %.
- 10 - Point de fusion : 170-171°C

Exemple 7 :

Synthèse de la 3-O-acétyl-7α-OH-DHEA de formule (4)

15

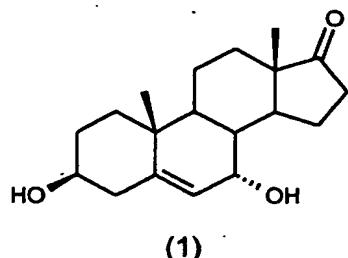


- On prépare une solution de 1 mmol de 3-O-acétyl-7α-hydroxy-17,17-éthylènedioxy-DHEA dans un mélange acétone / eau (dans un rapport 1/1 en volume) et on ajoute le p-TsOH (1 équivalent). La solution est agitée pendant 24h à température ambiante. Puis l'acétone est évaporé sous vide. Le milieu réactionnel est dilué avec de l'acétate d'éthyle puis lavé plusieurs fois avec de l'eau. La phase organique est séchée puis évaporée à sec. Le résidu est purifié par chromatographie et recristallisé.
- Rendement : 95% ;
- 25 - Point de fusion : 168-169°C (acétone/hexane)

REVENDICATION

1. Procédé de préparation de la 7alpha-hydroxy-déhydroépiandrostérone de formule (1) suivante :

5



à partir de la de la 3-O-acétyl-7 α -OH-DHEA, caractérisé en ce qu'il comprend une étape
10 (iii) consistant en une réaction de trans-estéification en utilisant un alkolate de métal
alcalin dans l'alcool correspondant.

2. Procédé de préparation selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'étape (iii)
consiste essentiellement en les étapes suivantes :

- 15 a) dissoudre la 3-O-acétyl-7 α -OH-DHEA dans un solvant alcoolique,
- b) ajouter entre 1 et 3 équivalents d'un alkolate de métal alcalin,
- c) agiter le milieu réactionnel pendant une durée comprise entre 0,5 et 12h,
- d) évaporer le solvant réactionnel, diluer avec de l'eau, et extraire le mélange avec un solvant choisi parmi le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle, le chloroforme ou le
- 20 diéthyléther,
- e) sécher et évaporer à sec la phase organique,
- f) éventuellement purifier le résidu.

3. Procédé de préparation selon la revendication 2, caractérisé en ce que :

- 25 - à l'étape a) le solvant alcoolique est choisi parmi l'éthanol, le méthanol ou le *tert*-butanol ;
- à l'étape b) on ajoute entre 1 et 1,5 équivalents, avantageusement 1 équivalent, d'alkolate de métal alcalin ;
- à l'étape c) le milieu réactionnel est agité pendant une durée comprise entre 1h et 5h,
- 30 avantageusement pendant 2h ;

- à l'étape d) le solvant est le dichlorométhane.

4. Procédé de préparation selon l'une quelconque des revendications 2 à 3, caractérisé en ce qu'à l'étape b) l'alkolate est choisi parmi l'éthanolate, le *tert*-butanolate ou le
5 méthanolate.

5. Procédé de préparation selon l'une quelconque des revendications 2 à 4, caractérisé en ce qu'à l'étape b) le métal alcalin est choisi parmi le lithium, le sodium ou le potassium.

10

6. Procédé de préparation de la 7 α -OH-DHEA à partir de la 3-O-acétyl 7-oxo-DHEA comprenant l'étape (iii) telle que définie suivant l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'étape (iii) est précédée d'une étape (ii) consistant en une réduction régiosélective et diastéréosélective de la 3-O-acétyl-7-oxo-DHEA en
15 utilisant le L-Selectride® comme agent réducteur.

7. Procédé de préparation selon la revendication précédente, caractérisé en ce que l'étape (iii) consiste essentiellement en les étapes suivantes :

- a) dissoudre la 3-O-acétyl-7-oxo-DHEA dans un solvant polaire organique anhydre,
- 20 b) refroidir la solution à une température comprise entre -90 et -10°C,
- c) ajouter sous atmosphère inerte entre 0,9 et 1,1 équivalents de L-Selectride®,
- d) agiter la solution à une température comprise entre -90 et -10°C, pendant une durée comprise entre 1 et 10h,
- e) amener la température du milieu réactionnel à une température comprise entre -10
25 et 10°C,
- f) ajouter une solution aqueuse de NaOH puis une solution aqueuse de H₂O₂ et agiter à température ambiante,
- g) diluer le milieu réactionnel avec un solvant polaire organique,
- h) laver plusieurs fois le mélange avec au moins une solution aqueuse acide, au moins
30 une solution aqueuse basique et au moins une solution aqueuse neutre,
- i) sécher la phase organique puis l'évaporer à sec,
- j) éventuellement purifier le résidu.

8. Procédé de préparation selon la revendication 7, caractérisé en ce que :
- à l'étape a) le solvant organique anhydre est choisi parmi le tétrahydrofurane (THF), le benzène ou le diéthyléther ;
 - à l'étape b) la solution est refroidie à une température de -78°C ;
- 5 - à l'étape c) on ajoute entre 0,95 et 1,05 équivalents, avantageusement 1 équivalent, de L-Selectride® ;
- à l'étape d) la solution est agitée à une température comprise entre -80 et -60°C, avantageusement -78°C, pendant une durée comprise entre 1 et 10h, avantageusement 5h ;
- 10 - à l'étape e) la température du milieu réactionnel est portée à 0°C ;
- à l'étape g) le solvant polaire organique est choisi parmi le diéthyléther, l'acétate d'éthyle, le chloroforme ou le dichlorométhane ;
 - à l'étape h) le mélange réactionnel dilué est lavé plusieurs fois avec au moins une solution aqueuse à l'acide citrique à 5%, au moins une solution aqueuse basique de
- 15 KHCO₃ saturé, et au moins une solution aqueuse neutre.

9. Procédé de préparation de la 7α-OH-DHEA à partir de la de la 3-O-acétyl-DHEA comprenant les étapes (iii) et (ii) telles que définies suivant l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'étape (ii) est précédée d'une étape
- 20 (i) consistant en une réaction d'oxydation en position allylique de la 3-O-acétyl-DHEA.

10. Procédé de préparation selon la revendication précédente, caractérisé en ce que l'étape (i) consiste essentiellement en les étapes :
- a) dissoudre la 3-O-acétyl-DHEA dans un solvant organique ou un mélange de
 - 25 solvants organique,
 - b) ajouter entre 0,005 et 0,1 équivalents de cuivre,
 - c) refroidir le milieu réactionnel à une température comprise entre -10 et 10 °C,
 - d) ajouter entre 5 et 10 équivalents de peroxyde organique ou minéral,
 - e) laisser remonter la température du milieu réactionnel à température ambiante et
- 30 agiter pendant une durée comprise entre 0,5 et 4h,
- f) chauffer à une température comprise entre 40 et 80°C, pendant une durée comprise entre 4 et 72h,
 - g) refroidir le milieu réactionnel et l'ajouter à une solution aqueuse alcaline,
 - h) extraire la phase aqueuse par un solvant organique,

- i) laver les phases organiques avec une solution aqueuse alcaline puis éventuellement avec une solution aqueuse saturée en NaCl,
- j) sécher et évaporer à sec sous vide les phases organiques,
- k) éventuellement purifier le résidu.

5

11. Procédé de préparation selon la revendication précédente, caractérisé en ce que :

- à l'étape a) le solvant organique est choisi parmi l'acetonitrile, le cyclohexane, le benzène, le méthanol, l'éthanol ou le *tert*-butanol ;

- à l'étape b) on ajoute 0,01 équivalents de cuivre, avantageusement sous forme de sel;

10 - à l'étape c) le milieu réactionnel est refroidi à une température comprise entre 5 et 10°C ;

- à l'étape d) on ajoute 6 équivalents de peroxyde organique ou minéral, avantageusement un peroxyde organique ;

- à l'étape e) on laisse remonter la température du milieu réactionnel à température

15 ambiante et on agite pendant 2h ;

- à l'étape f), on chauffe à une température comprise entre 50 et 70°C, avantageusement 50°C, pendant une durée comprise entre 16 et 24h, avantageusement 20h ;

- à l'étape g) la solution aqueuse alcaline est une solution de NaHCO₃ à 10% ;

20 - à l'étape h) le solvant organique est choisi parmi le diéthyléther, l'acétate d'éthyle, le chloroforme, le dichlorométhane ;

- à l'étape i) la solution aqueuse alcaline est une solution saturée en NaHCO₃.

12. Procédé de préparation selon la revendication précédente, caractérisé en ce qu'à

25 l'étape b) le sel de cuivre est choisi parmi Cul, CuBr, CuCl, CuCl₂.

13. Procédé de préparation selon l'une quelconque des revendications 10 à 12, caractérisé en ce qu'à l'étape d) le peroxyde organique est choisi parmi les alkyls hydroperoxyde, avantageusement le *t*-butyl hydroperoxyde.

30

14. Procédé de préparation selon la revendication 9, caractérisé en ce que l'étape (i) consiste essentiellement en les étapes :

- a) préparer un mélange constitué d'anhydride d'acide, d'acide acétique, d'acétate de sodium et de 3-O-acétyl-DHEA,

- b) placer le milieu réactionnel sous agitation et le chauffer à une température comprise entre 40 et 60°C,
 - c) ajouter entre 1 et 10 équivalents d'un oxyde,
 - d) maintenir le milieu réactionnel sous agitation pendant une durée comprise entre 0,5
- 5 et 4h, à une température comprise entre 40 et 60°C,
- e) refroidir le milieu réactionnel et l'ajouter à une solution constituée d'eau et de glace,
 - f) filtrer le précipité obtenu et le laver plusieurs fois à l'eau,
 - g) sécher le résidu et éventuellement le purifier.
- 10 15. Procédé de préparation selon la revendication 14, caractérisé en ce que :
- à l'étape b) le milieu réactionnel est chauffé à une température comprise entre 56 et 58°C ;
 - à l'étape c) l'on ajoute entre 2 et 6 équivalents d'oxyde, avantageusement 3,5 équivalents ;
- 15 - à l'étape d), le milieu réactionnel est maintenu sous agitation pendant une durée de 1h à une température comprise entre 56 et 58°C.
16. Procédé de préparation selon l'une quelconque des revendications 14 à 15, caractérisé en ce qu'à l'étape c) l'oxyde est un choisi parmi un oxyde de chrome, de
- 20 manganèse, de sélénium ou de magnésium, avantageusement le trioxyde de chrome (CrO_3).
17. Procédé de préparation selon la revendication 9, caractérisé en ce que l'étape (i) consiste essentiellement en les étapes :
- 25 a) dissoudre la 3-O-acétyl-DHEA dans un solvant organique ou un mélange de solvant organique,
- b) ajouter entre 10 et 15 équivalents d'hydroperoxyde d'alkyle,
- c) agiter à température ambiante et ajouter entre 1 et 5 équivalents de périodate d'un métal alcalin,
- 30 d) ajouter de l'eau en une quantité suffisante pour permettre une solubilisation totale du périodate dans le milieu réactionnel, avantageusement entre 10 et 50% en volume,
- e) ajouter 1 et 5 équivalents de bases organiques ou de bases faibles inorganiques,

- f) agiter la solution pendant une durée comprise entre 8 et 48 h à température ambiante,
 - g) diluer le milieu réactionnel avec un solvant organique,
 - h) laver plusieurs fois le mélange avec une solution aqueuse de sulfate de sodium,
- 5 puis avec de l'eau,
- i) sécher la phase organique puis l'évaporer à sec,
 - j) éventuellement purifier le résidu.

18. Procédé de préparation selon la revendication précédente, caractérisé en ce que :

- 10 - à l'étape a) le ou les solvant(s) organique(s) est choisi parmi l'acétone, l'heptane, l'acetonitrile, le *tert*-butanol, la pyridine, l'éther de pétrole, l'hexane, l'isooctane ou le cyclohexane ;
- à l'étape b) l'hydroperoxyde d'alkyle est le t-butyl-hydroperoxyde ;
- à l'étape c) on ajoute 3 équivalents de périodate d'un métal alcalin, avantageusement 15 de périodate de sodium (NaIO_4) ;
- à l'étape d) on ajoute entre 20 et 30% d'eau en volume ;
- à l'étape e) on ajoute 3 équivalents de bases organiques, avantageusement la pyridine, ou de bases faibles inorganiques, avantageusement choisie parmi les carbonates ou les bicarbonates de métaux alcalins ;
- 20 - à l'étape f) la solution est agitée pendant une durée de 14h à température ambiante ;
- à l'étape g) le solvant organique est choisi parmi l'acétate d'éthyle, le dichlorométhane, le chloroforme ou le diéthyléther.

19. Procédé de préparation selon l'une quelconque des revendications 17 et 18, 25 caractérisé en ce qu'à l'étape a) la 3-O-acétyl-DHEA est dissoute dans un mélange de solvant organique constitué d'acétone et d'heptane, avantageusement dans un rapport 1/1.

20. Procédé de préparation selon la revendication 19, caractérisé en ce qu'à l'étape e) 30 la base faible inorganique est le bicarbonate de sodium.

21. Procédé de préparation de la 7alpha-hydroxy-déhydroépiandrostérone selon l'une quelconque des revendications 9 à 21, caractérisé en ce qu'il comprend en outre les étapes supplémentaires suivantes :

- (iv) une réaction de protection du carbonyle en position 17 de la 3-O-acétyl-DHEA avant l'étape (i) ;
- (v) une réaction de déprotection du carbonyle en position 17 du dérivé obtenu après l'étape (ii), la dite réaction de déprotection ayant lieu avant l'étape (iii).

5

22. Procédé de préparation selon la revendication précédente, caractérisé en ce qu'à l'étape (iv) la réaction de protection du carbonyle en position 17 de la 3-O-acétyl-DHEA consiste à former un groupe choisi parmi un acétal cyclique ou non cyclique, un dithio acétal cyclique ou non cyclique, un monothio acétal, un cyanohydrine O-substituée, une hydrazone substituée, une imine, une énamine, une imidazolidine ou une benzothiazole.

10

23. Procédé de préparation selon la revendication précédente, caractérisée en ce que le carbonyle en position 17 de la 3-O-acétyl-DHEA est protégé sous forme d'un groupe choisi parmi un acétal cyclique ou non cyclique, un dithio acétal cyclique ou non cyclique, une imine, une énamine ou une imidazolidine, avantageusement un acétal cyclique.

24. Procédé de préparation selon l'une quelconque des revendications 21 à 23, caractérisée en ce que le carbonyle en position 17 de la 3-O-acétyl-DHEA est protégé sous forme d'un acétal cyclique correspondant à la 1,3-dioxolane ou à la 1,3-dioxane.

25. Procédé de préparation selon l'une quelconque des revendications 21 à 24, caractérisé en ce que la réaction de protection du carbonyle en position 17 de la 3-O-acétyl-DHEA est une réaction d'acétalisation consistant essentiellement en les étapes :

- a) préparer une solution constituée par la 3-O-acétyl-DHEA, un diol, un desséchant,
- b) ajouter une quantité catalytique de proton,
- c) agiter le mélange à une température comprise entre 30 et 60 °C pendant une durée comprise entre 1 et 8h,
- 30 d) amener la température du milieu réactionnel à température ambiante,
- e) ajouter une solution aqueuse de NaHCO₃,
- f) extraire le mélange avec un solvant choisi parmi le dichlorométhane, le chloroforme, l'acétate d'éthyle ou le diéthyléther,
- g) sécher et évaporer à sec la phase organique,

h) éventuellement purifier le résidu.

26. Procédé de préparation selon la revendication précédente, caractérisé en ce que :

- à l'étape a) le diol est l'éthylène glycol et le desséchant est choisi parmi le tamis moléculaire ou l'orthoformiate d'éthyle ;
- à l'étape b) la quantité catalytique de proton a comme source l'acide paratoluènesulfonique ou des résines échangeuses d'ions ;
- à l'étape c) le mélange est agité à une température de 40°C pendant 3h ;
- à l'étape f) le solvant est le dichlorométhane.

10

27. Procédé de préparation selon l'une quelconque des revendications 25 à 26 caractérisé en ce qu'à l'étape a) la 3-O-acétyl-DHEA, le diol et le desséchant sont présents dans la solution dans un rapport respectif de 1 mmol / 3 ml / 2 ml.

15 28. Procédé de préparation selon l'une quelconque des revendications 21 à 23, caractérisé en ce que la réaction de protection du carbonyle en position 17 de la 3-O-acétyl-DHEA est une réaction d'acétalisation consistant essentiellement en les étapes :

- a) porter à reflux un mélange constituée de 3-O-acétyl DHEA, d'éthylène glycol et d'acide paratoluènesulfonique (pTsOH) en solution dans du benzène, dans un montage permettant de réaliser une distillation azéotropique.

20 b) chauffer la solution à une température comprise entre 80 et 100°C, pendant une durée comprise entre 4 et 48h,

c) laisser revenir la température du milieu réactionnel à température ambiante,

d) sécher et évaporer à sec la phase organique,

25 e) éventuellement purifier le résidu.

29. Procédé de préparation selon la revendication précédente, caractérisé en ce que :

- à l'étape a) la 3-O-acétyl DHEA, l'éthylène glycol, l'acide paratoluènesulfonique et le benzène sont présents dans la solution dans un rapport respectif de 1 mmol / 5 ml / 0,1

30 mmol / 20 ml et le montage permettant de réaliser une distillation azéotropique est équipé d'un Dean-Stark ;

- à l'étape b) la solution est chauffée à reflux du benzène, pendant 24h.

30. Procédé de préparation selon la revendication 21, caractérisé en ce que la réaction de déprotection de l'étape (v) est une réaction de désacétalisation.

31. Procédé de préparation selon la revendication précédente, caractérisé en ce que la réaction de déprotection du carbonyle de la 3-O-acétyl-7 α -hydroxy-DHEA protégée en position 17 sous forme d'acétal selon l'un quelconque des procédés décrits dans les revendications 22 à 29, consiste essentiellement en les étapes :

- a) dissoudre la 3-O-acétyl-7 α -hydroxy-DHEA protégée en position 17 sous forme d'acétal dans un mélange comprenant de l'eau et un solvant miscible à l'eau,
- b) ajouter de l'acide paratoluènesulfonique,
- c) agiter la solution pendant une durée comprise entre 4 et 48h, à température ambiante,
- d) évaporer sous vide le solvant miscible à l'eau,
- e) diluer le milieu réactionnel avec un solvant organique, puis laver plusieurs fois avec de l'eau,
- f) sécher et évaporer à sec la phase organique,
- g) éventuellement purifier le résidu.

32. Procédé de préparation selon la revendication précédente, caractérisé en ce que :
- à l'étape a) l'eau et le solvant miscible à l'eau, avantageusement l'acétone, sont dans un rapport 1/1 en volume ;
- à l'étape b) on ajoute 1 équivalent d'acide paratoluènesulfonique ;
- à l'étape c) la solution est agitée pendant 24h ;
- à l'étape e) le solvant organique est choisi parmi l'acétate d'éthyle, le dichlorométhane, le chloroforme ou le diéthyléther.

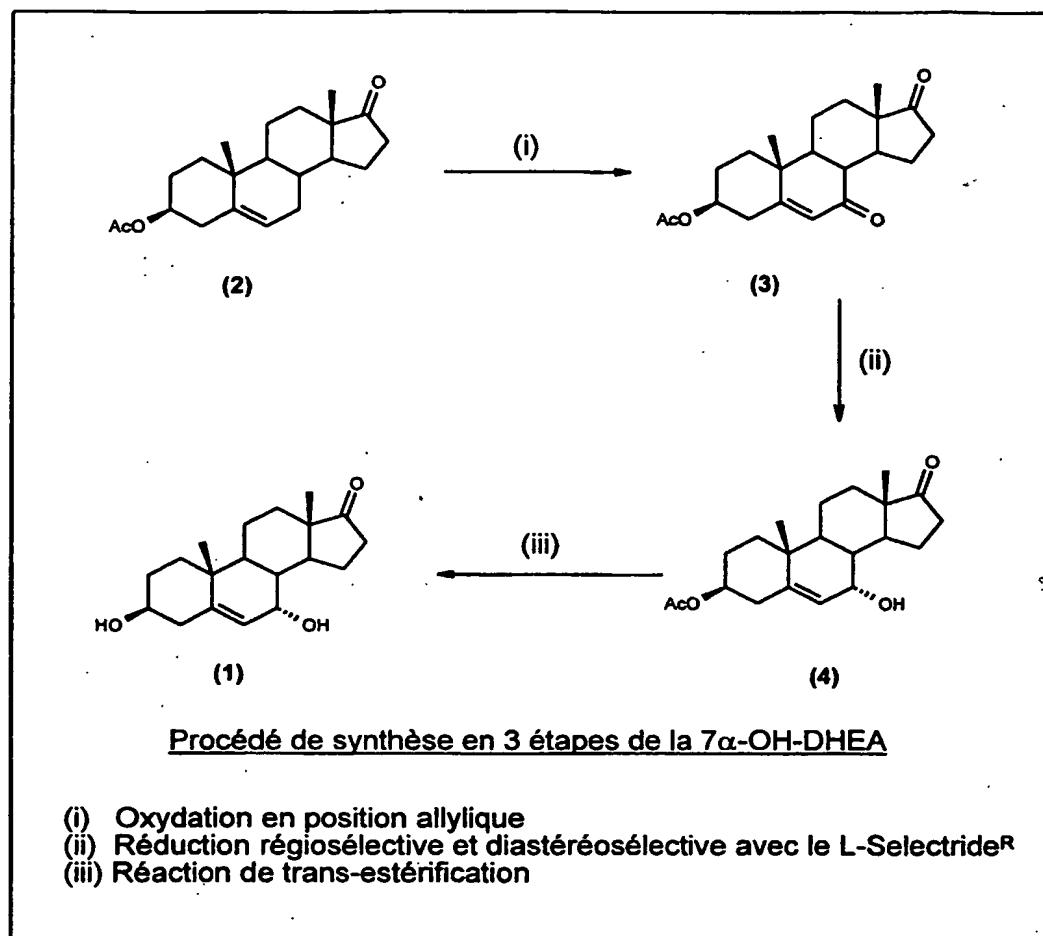
33. Procédé de préparation selon la revendication 30, caractérisé en ce que la réaction de déprotection du carbonyle de la 3-O-acétyl-7 α -hydroxy-DHEA protégée en position 17 sous forme d'acétal selon l'un quelconque des procédés décrits dans les revendications 22 à 29, consiste essentiellement en les étapes :
a) préparer une solution constituée de 3-O-acétyl-7 α -hydroxy-DHEA protégée en position 17 sous forme d'acétal dans un solvant organique,

- b) ajouter du sulfate de cuivre adsorbé sur de la silice en une quantité comprise entre 2 et 4g par mmol de 3-O-acétyl-7 α -hydroxy-DHEA protégée en position 17 sous forme d'acétal,
- c) agiter le milieu réactionnel pendant une durée comprise entre 1 à 48h à une température comprise entre 20 et 80°C,
- 5 d) filtrer la silice, et concentrer à sec,
- e) éventuellement purifier le résidu.

34. Procédé de préparation selon la revendication précédente, caractérisé en ce que :

- 10 - à l'étape a) le solvant organique est choisi parmi le benzène, le chloroforme ou le dichlorométhanè ;
- l'étape b) le sulfate de cuivre adsorbé sur de la silice est ajouté en une quantité égale à 2,5g par mmol de 3-O-acétyl-7 α -hydroxy-DHEA protégée en position 17 sous forme d'acétal ;
- 15 - à l'étape c) le milieu réactionnel est agité pendant une durée comprise entre 2 et 20h, avantageusement 6h, et à une température comprise entre 50 et 70°C, avantageusement 60°C.

Figure 1



A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C07J1/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C07J

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

WPI Data, EPO-Internal, PAJ, BIOSIS, CHEM ABS Data, BEILSTEIN Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FR 2 793 491 A (MAYOLY SPINDLER LAB) 17 November 2000 (2000-11-17) example 1 ---	1-5
Y		21-34
A		6-20 -/-

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
5 June 2002	13/06/2002
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl. Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Watchorn, P

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 02/00477

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	MARWAH P ET AL: "Steroidal allylic fluorination using diethylaminosulfur trifluoride: A convenient method for the synthesis of 3beta-acetoxy-7alpha- and 7beta-fluoroandrostan-5-en-17-one" STEROIDS: STRUCTURE, FUNCTION, AND REGULATION, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, NEW YORK, NY, US, vol. 61, no. 8, 1 August 1996 (1996-08-01), pages 453-460, XP004026606 ISSN: 0039-128X page 454, column 1, paragraph 3 -column 2, paragraph 1 page 454, column 2, last paragraph -page 455, column 1, paragraph 2 ---	21-34
A	page 454, column 1, paragraph 3 -column 2, paragraph 1 page 454, column 2, last paragraph -page 455, column 1, paragraph 2 ---	6-20
Y	US 5 461 042 A (LORIA ROGER M) 24 October 1995 (1995-10-24)	21-34
A	column 9, line 50-67 column 10, line 30-45 ---	6-20
Y	WO 94 23722 A (LORIA ROGER M) 27 October 1994 (1994-10-27)	21-34
A	page 9, line 20-35 page 10, line 16-36 ---	6-20
Y	US 5 277 907 A (LORIA ROGER M) 11 January 1994 (1994-01-11)	21-34
A	column 9, line 1-18 column 9, line 48-63 ---	6-20
Y	WO 93 20696 A (LORIA ROGER) 28 October 1993 (1993-10-28)	21-34
A	page 14, line 21-35 page 15, line 20-35 ---	6-20
A	US 5 693 809 A (ESSER CRAIG K ET AL) 2 December 1997 (1997-12-02) column 35, line 29-41 ---	6-20
Y	SALVADOR J A R ET AL: "Copper-Catalysed Allylic Oxidation of DELTA-Steroids by t-Butyl Hydroperoxide" TETRAHEDRON LETTERS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, vol. 38, no. 1, 6 January 1997 (1997-01-06), pages 119-122, XP004070441 ISSN: 0040-4039 cited in the application page 120, scheme 2 ---	21-34
A	---	9
	-/-	

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 92 03925 A (HUMANETICS CORP) 19 March 1992 (1992-03-19)	21-34
A	example III ---	9
Y	WO 98 50409 A (HUMANETICS CORP) 12 November 1998 (1998-11-12)	21-34
A	examples 1-6,11 ---	9
Y	POUZAR V ET AL: "Synthesis of (19E)-3beta,7alpha-dihydroxy-17-oxoandrost- -5-en-19-ol 19-(0-carboxymethyl)oxime, a new hapten for 7alpha-hydroxydehydroepi- androsterone(3beta,7alpha-dihydroxyandrost- -5-en-17-one) - 7alpha-hydroxylation of dehydroepiandrosterone and pregnenolone by rat brain microsomes" STEROIDS: STRUCTURE, FUNCTION, AND REGULATION, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, NEW YORK, NY, US, vol. 63, no. 9, 1 September 1998 (1998-09-01), pages 454-458, XP004134059 ISSN: 0039-128X cited in the application page 455, column 1, last paragraph -column 2, paragraph 1 -----	21-34
A		6,9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int'l Application No

PCT/FR 02/00477

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
FR 2793491	A	17-11-2000	FR	2793491 A1		17-11-2000
US 5461042	A	24-10-1995	US	5277907 A		11-01-1994
			US	5077284 A		31-12-1991
			US	5641768 A		24-06-1997
			AU	2265092 A		18-11-1993
			EP	1208842 A2		29-05-2002
			EP	0637203 A1		08-02-1995
			WO	9320696 A1		28-10-1993
			US	5206008 A		27-04-1993
			US	5407684 A		18-04-1995
WO 9423722	A	27-10-1994	US	5387583 A		07-02-1995
			WO	9423722 A1		27-10-1994
US 5277907	A	11-01-1994	US	5206008 A		27-04-1993
			US	5461042 A		24-10-1995
			US	5641768 A		24-06-1997
			AU	2265092 A		18-11-1993
			EP	1208842 A2		29-05-2002
			EP	0637203 A1		08-02-1995
			WO	9320696 A1		28-10-1993
WO 9320696	A	28-10-1993	US	5206008 A		27-04-1993
			AU	2265092 A		18-11-1993
			EP	1208842 A2		29-05-2002
			EP	0637203 A1		08-02-1995
			WO	9320696 A1		28-10-1993
			US	5461042 A		24-10-1995
			US	5641768 A		24-06-1997
			US	5277907 A		11-01-1994
US 5693809	A	02-12-1997	AU	4251993 A		13-12-1993
			WO	9323039 A1		25-11-1993
WO 9203925	A	19-03-1992	AU	647528 B2		24-03-1994
			AU	8541891 A		30-03-1992
			CA	2090759 A1		01-03-1992
			EP	0547151 A1		23-06-1993
			JP	2973031 B2		08-11-1999
			JP	6508345 T		22-09-1994
			WO	9203925 A1		19-03-1992
			US	5585371 A		17-12-1996
			US	5506223 A		09-04-1996
			US	5424463 A		13-06-1995
			US	5641766 A		24-06-1997
			US	5807848 A		15-09-1998
			US	5707983 A		13-01-1998
			US	5296481 A		22-03-1994
			US	5292730 A		08-03-1994
WO 9850409	A	12-11-1998	US	5869709 A		09-02-1999
			AU	7286998 A		27-11-1998
			WO	9850409 A1		12-11-1998
			US	6111118 A		29-08-2000

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 C07J1/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
CIB 7 C07J

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

WPI Data, EPO-Internal, PAJ, BIOSIS, CHEM ABS Data, BEILSTEIN Data

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	FR 2 793 491 A (MAYOLY SPINDLER LAB) 17 novembre 2000 (2000-11-17) exemple 1 ---	1-5
Y		21-34
A		6-20 -/-

 Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (elle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

T document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

X document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

Y document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

Z document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

5 juin 2002

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

13/06/2002

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Watchorn, P

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

t de Internationale No
PCT/FR 02/00477

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	MARWAH P ET AL: "Steroidal allylic fluorination using diethylaminosulfur trifluoride: A convenient method for the synthesis of 3beta-acetoxy-7alpha- and 7beta-fluoroandrost-5-en-17-one" STEROIDS: STRUCTURE, FUNCTION, AND REGULATION, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, NEW YORK, NY, US, vol. 61, no. 8, 1 aoÙt 1996 (1996-08-01), pages 453-460, XP004026606 ISSN: 0039-128X page 454, colonne 1, alinéa 3 -colonne 2, alinéa 1 page 454, colonne 2, dernier alinéa -page 455, colonne 1, alinéa 2 ---	21-34
A	page 454, colonne 1, alinéa 3 -colonne 2, alinéa 1 page 454, colonne 2, dernier alinéa -page 455, colonne 1, alinéa 2 ---	6-20
Y	US 5 461 042 A (LORIA ROGER M) 24 octobre 1995 (1995-10-24)	21-34
A	colonne 9, ligne 50-67 colonne 10, ligne 30-45 ---	6-20
Y	WO 94 23722 A (LORIA ROGER M) 27 octobre 1994 (1994-10-27)	21-34
A	page 9, ligne 20-35 page 10, ligne 16-36 ---	6-20
Y	US 5 277 907 A (LORIA ROGER M) 11 janvier 1994 (1994-01-11)	21-34
A	colonne 9, ligne 1-18 colonne 9, ligne 48-63 ---	6-20
Y	WO 93 20696 A (LORIA ROGER) 28 octobre 1993 (1993-10-28)	21-34
A	page 14, ligne 21-35 page 15, ligne 20-35 ---	6-20
A	US 5 693 809 A (ESSER CRAIG K ET AL) 2 décembre 1997 (1997-12-02) colonne 35, ligne 29-41 ---	6-20
Y	SALVADOR J A R ET AL: "Copper-Catalysed Allylic Oxidation of DELTA-Steroids by t-Butyl Hydroperoxide" TETRAHEDRON LETTERS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, vol. 38, no. 1, 6 janvier 1997 (1997-01-06), pages 119-122, XP004070441 ISSN: 0040-4039 cité dans la demande page 120, schème 2 ---	21-34
A	---	9
	-/-	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

de Internationale No

ru /FR 02/00477

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	WO 92 03925 A (HUMANETICS CORP) 19 mars 1992 (1992-03-19) exemple III ---	21-34
A		9
Y	WO 98 50409 A (HUMANETICS CORP) 12 novembre 1998 (1998-11-12) exemples 1-6,11 ---	21-34
A		9
Y	POUZAR V ET AL: "Synthesis of (19E)-3beta,7alpha-dihydroxy-17-oxoandrost- -5-en-19-ol 19-(0-carboxymethyl)oxime, a new hapten for 7alpha-hydroxydehydroepi- androsterone(3beta,7alpha-dihydroxyandrost- -5-en-17-one) - 7alpha-hydroxylation of dehydroepiandrosterone and pregnenolone by rat brain microsomes" STEROIDS: STRUCTURE, FUNCTION, AND REGULATION, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, NEW YORK, NY, US, vol. 63, no. 9, 1 septembre 1998 (1998-09-01), pages 454-458, XP004134059 ISSN: 0039-128X cité dans la demande page 455, colonne 1, dernier alinéa -colonne 2, alinéa 1 -----	21-34
A		6,9

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements rel
x membres de familles de brevets

Rapport Internationale No
FR / FR 02/00477

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication		Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR 2793491	A	17-11-2000	FR 2793491 A1	17-11-2000
US 5461042	A	24-10-1995	US 5277907 A US 5077284 A US 5641768 A AU 2265092 A EP 1208842 A2 EP 0637203 A1 WO 9320696 A1 US 5206008 A US 5407684 A	11-01-1994 31-12-1991 24-06-1997 18-11-1993 29-05-2002 08-02-1995 28-10-1993 27-04-1993 18-04-1995
WO 9423722	A	27-10-1994	US 5387583 A WO 9423722 A1	07-02-1995 27-10-1994
US 5277907	A	11-01-1994	US 5206008 A US 5461042 A US 5641768 A AU 2265092 A EP 1208842 A2 EP 0637203 A1 WO 9320696 A1	27-04-1993 24-10-1995 24-06-1997 18-11-1993 29-05-2002 08-02-1995 28-10-1993
WO 9320696	A	28-10-1993	US 5206008 A AU 2265092 A EP 1208842 A2 EP 0637203 A1 WO 9320696 A1 US 5461042 A US 5641768 A US 5277907 A	27-04-1993 18-11-1993 29-05-2002 08-02-1995 28-10-1993 24-10-1995 24-06-1997 11-01-1994
US 5693809	A	02-12-1997	AU 4251993 A WO 9323039 A1	13-12-1993 25-11-1993
WO 9203925	A	19-03-1992	AU 647528 B2 AU 8541891 A CA 2090759 A1 EP 0547151 A1 JP 2973031 B2 JP 6508345 T WO 9203925 A1 US 5585371 A US 5506223 A US 5424463 A US 5641766 A US 5807848 A US 5707983 A US 5296481 A US 5292730 A	24-03-1994 30-03-1992 01-03-1992 23-06-1993 08-11-1999 22-09-1994 19-03-1992 17-12-1996 09-04-1996 13-06-1995 24-06-1997 15-09-1998 13-01-1998 22-03-1994 08-03-1994
WO 9850409	A	12-11-1998	US 5869709 A AU 7286998 A WO 9850409 A1 US 6111118 A	09-02-1999 27-11-1998 12-11-1998 29-08-2000

THIS PAGE BLANK (USPTO)